

实验技术与方法

QuEChERS-超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱法
检测青菜中 214 种农药残留朱峰¹, 于洁², 霍宗利¹, 刘华良¹, 张昊¹, 刘德晔¹, 吉文亮¹

(1.江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210009; 2.SCIEX 中国, 上海 200335)

摘要:目的 基于 QuEChERS 方法,建立了利用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱检测青菜中 214 种农药残留的方法。方法 青菜样品经乙腈提取后,用 *N*-丙基乙二胺 (PSA)、C18、硫酸钠和石墨化碳黑 (GCB) 混合净化剂净化,以 5 mmol/L 甲酸铵溶液 (0.1% 甲酸) 和乙腈作为流动相梯度洗脱,目标物质经 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) 分离,采用高分辨质谱信息依赖扫描模式 (information dependent acquisition, IDA) 在正离子模式下进行测定。结果 214 种农药在 4~1 000 ng/L 范围内线性关系良好,相关系数 (r^2) 均大于 0.99,各目标物质在空白青菜样品中 3 个浓度添加水平下的回收率为 41.9%~128.5%,相对标准偏差 (RSD) 为 0.4%~14.3% ($n=6$),方法检出限和定量限分别为 0.004~5.443 和 0.206~18.125 μg/kg。实际样品中共检测出 8 种农药残留。结论 该方法具有准确、快速、简单、高灵敏度、高通量等优点,适用于日常青菜样品中农药残留的快速筛查与检测。

关键词: QuEChERS; 农药残留; 青菜; 超高效液相色谱; 飞行时间质谱

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2020)01-0025-07

DOI: 10.13590/j.cjfh.2020.01.005

Determination of 214 pesticide residues in green vegetables using QuEChERS-ultra high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time of flight mass spectrometryZHU Feng¹, YU Jie², HUO Zongli¹, LIU Hualiang¹, ZHANG Hao¹, LIU Deye¹, JI Wenliang¹

(1. Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nanjing 210009, China;

2. SCIEX China, Shanghai 200335, China)

Abstract: Objective A method for the determination of 214 pesticide residues in green vegetables by QuEChERS using ultra high performance liquid chromatography coupled with quadrupole time of flight mass spectrometry was established.

Methods After extracted by acetonitrile, the green vegetables were cleaned-up by a mixed sorbent with primary secondary amine (PSA), C18, Na₂SO₄ and graphitized carbon black (GCB). The target compounds were separated by Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm) using 5 mmol/L ammonium formate solution (0.1% formic acid) and acetonitrile as mobile phase by gradient elution, and analyzed in positive electrospray ionization mode by time of flight mass spectrometry scan-information dependent acquisition (IDA) -product ion scan. **Results** All the 214 pesticides showed good linear relationships in the range of 4-1 000 ng/L, and the correlation coefficients (r^2) were higher than 0.99. The recoveries at three different spiked levels for all target compounds in blank matrices were 41.9%-128.5%, and the relative standard deviations (RSD) were 0.4%-14.3% ($n=6$). The limits of detection and quantitation of the method were 0.004-5.443 and 0.206-18.125 μg/kg, respectively. Eight pesticide residues were detected in the real samples. **Conclusion** The method was suitable for rapid screening and analysis of pesticide residues in green vegetables with the advantages of accuracy, rapidity, simplicity, high sensitivity and high throughput.

Key words: QuEChERS; pesticide residues; green vegetables; ultra high performance liquid chromatography; time of flight mass spectrometry

收稿日期: 2019-12-02

基金项目: 江苏省预防医学科研课题 (Y2018081); 江苏省医学重点学科 (实验室) (ZDXKA2016008)

作者简介: 朱峰 男 副主任技师 研究方向为食品和水质理化检验 E-mail: zf850824@163.com

通信作者: 吉文亮 男 主任技师 研究方向为食品和水质理化检验 E-mail: 641827872@qq.com

青菜是我国居民食用最多的一种蔬菜。由于青菜在种植生长过程中容易受到病虫、杂草的影响,因此,为了提高产量和产品质量,农药的使用不可避免。据报道^[1],目前已经有 1 400 多种农药用于农作物生长过程中。然而,一些人为了追求利益,通常会过量的使用农药,甚至使用禁用药物。我国发布的 GB

2763—2016《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》^[2]和 GB 2763.1—2018《食品安全国家标准 食品中百草枯等 43 种农药最大残留限量》^[3]分别涵盖了 433 种(4 140 项)和 43 种(302 项)农药最大残留限量,这对规范农药的使用发挥了积极作用。

农药残留常见的检测方法主要有液相色谱法^[4-5]、液相色谱-低分辨质谱法^[6-7]、液相色谱-高分辨质谱法^[8-9]、气相色谱法^[10]、气相色谱-质谱法^[11-12]等。其中,液相色谱-高分辨质谱法不仅具有高通量筛查的优势,同时还能获得目标物质更为全面且精确的化合物信息,这为化合物的定性确证提供了有力的数据支撑,例如同分异构体的区分以及一些假阳性结果的判定等,已在农药筛查中得以应用。

农药残留检测前处理技术主要包括 QuEChERS 法^[13-15]、固相萃取法^[16]、固相微萃取法^[17]、基质固相分散萃取法^[18]等,其中 QuEChERS 法应用最广泛,但之前的文献报道多集中于少数几种或同类型农药的检测,对于上百种农药的筛查检测需采取多种手段。本试验对传统的 QuEChERS 方法进行了优化,确定了净化过程中各分散剂的比例,既达到了良好的净化效果,又保证了目标物质具有较好的提取效率,最终建立了利用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱快速检测青菜中 214 种农药残留的方法。该方法简单、快速、通量高、灵敏度高,为评估青菜样品中农药残留的情况提供了可靠的技术平台。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集与制备

由江苏省 13 个地市级疾病预防控制中心分别选取 10 个当地具有代表性的农贸市场或超市作为采样点,每个采样点采集 1 份青菜(上海青或鸡毛菜或奶白菜)样品,共计 130 份样品。各地市将 10 份青菜等质量均质混匀后用冷链送至江苏省疾病预防控制中心进行检测,每份混合样品不少于 500 g。

1.1.2 主要仪器与试剂

ExionLC AD 超高效液相色谱、X500R 四级杆飞行时间质谱均购自美国 AB SCIEX, Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm, 美国 Waters), 2-16K 冷冻离心机, 1-14 台式离心机, G2 涡旋仪。

醋酸钠(NaAc)、硫酸镁(MgSO₄)、硫酸钠(Na₂SO₄)、甲酸铵(HCOONH₄)均为分析纯,甲醇、乙腈均为色谱纯,甲酸为 HPLC 级, N-丙基乙二胺(PSA)粉末、C18 粉末、石墨化碳黑(GCB)粉末均购自中国安普公司。214 种农药残留标准品(纯度为

90.0%~99.5%)均购自德国 Dr. Ehrenstorfer 和美国 AccuStandard。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

准确称取(2.00±0.01)g 均质匀浆后的青菜样品于 50.0 ml 离心管中,精确加入 8.0 ml 乙腈,涡旋混匀 1.0 min,超声提取 10.0 min,在离心管中加入 0.75 g NaAc 和 3.00 g MgSO₄,立即涡旋混匀 1.0 min 后以 10 000 r/min 离心 10 min(离心半径 9.5 cm),取 1.0 ml 上清液移入预先加有 50.0 mg PSA、50.0 mg C18、50.0 mg Na₂SO₄ 和 5.0 mg GCB 混合净化剂的离心管中,涡旋净化 1.0 min 后以 14 800 r/min 离心 5.0 min(离心半径 6.6 cm),取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜,待进样分析。

1.2.2 仪器条件

色谱: Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm);柱温 35 ℃;进样体积 5 μl;流速为 0.3 ml/min;流动相 A 为 5 mmol/L 甲酸铵溶液(0.1%甲酸),B 为乙腈;梯度洗脱程序:0~0.5 min,5%B;0.5~5 min,5%~30%B;5~11 min,30%~80%B;11~15 min,80%~95%B;15~16.5 min,95%B;16.5~16.6 min,95%~5%B;16.6~18 min,5%B。

质谱:离子源为电喷雾(ESI)离子源;扫描模式为正离子扫描;喷雾电压为 5.5 kV;离子源温度为 550 ℃;去簇电压为 80 V;气帘气、雾化气、辅助气均为氮气,压力分别为 280、450、450 kPa;数据采集模式:信息依赖性扫描(IDA)模式;一级飞行时间质谱(TOF MS)全扫描触发二级飞行时间质谱(TOF MS/MS)10 个子离子扫描,一级飞行时间质谱扫描范围(*m/z*):100~600 Da,二级飞行时间质谱扫描范围(*m/z*):50~600 Da。

1.2.3 数据分析

利用标准品获得 214 种目标物质的保留时间、一级质谱、二级质谱信息并导入 AB SCIEX LibraryView 软件中,从而建立 214 种目标物质的数据库。利用 AB SCIEX OS 软件对样品进行数据采集和分析,通过对 214 种目标物质进行靶向筛查,将采集到的样品信息与建立的数据库比对,从而获得样品检测结果。

2 结果与分析

2.1 仪器筛查方法的建立

筛查的农药品种包括国内外蔬菜种植中使用较多、国内外禁用、毒性较大且对人体有“三致”危险的农药,包括有机磷、有机氯、有机氮、拟除虫菊酯、氨基甲酸酯、醚类、酚类、酰胺类、杂环类等 214 种农药。

由于检测的农药种类较广,其化学性质差异较大,流动相的选择影响化合物的分离效率。对于高分辨质谱,目标物质在色谱柱上的分离程度越高,其二级质谱的干扰碎片信息会越少,有利于定性结果判断的准确性。本试验比较了水-乙腈、0.1%甲酸水-乙腈以及 5 mmol/L 甲酸铵(0.1%甲酸)-乙腈作为流动相对各目标物质的分离效果。当使用 5 mmol/L 甲酸铵溶液(0.1%甲酸)-乙腈作为流动相时,各目标物质的分离效果以及整体响应值最佳,这主要是因为甲酸可以增加正离子目标物质的响应值,同时甲酸铵溶液对部分目标物质的色谱峰形具有改善作用,因此选用 5 mmol/L 甲酸铵溶液(0.1%甲酸)-乙腈作为流动相。

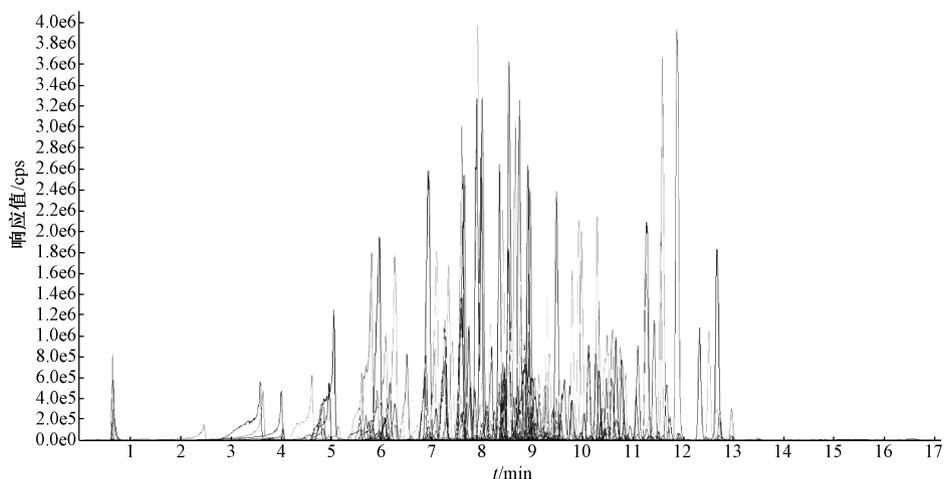


图 1 214 种农药的总离子图谱

Figure 1 Total ion chromatogram of 214 pesticides

2.2 提取方法的优化

乙腈是 QuEChERS 方法中最常用的提取溶剂^[13,19-21],多用于蔬菜、水果中农药残留的检测^[6,14]。这主要是因为乙腈具有较好的穿透能力,能同时对极性和非极性农药残留具有较好的提取效率,适合于极性范围较广的多残留农药的提取。相较于其他提取溶剂,如丙酮等,乙腈提取的色素等杂质较少^[22];有文献^[6]表明甲醇的提取效率也较差。提取溶剂的酸度可能会影响农药残留的提取效率,因此本试验考察了在乙腈中添加不同浓度的甲酸,比较酸度对 214 种目标物质提取效率的影响。分别在提取溶剂中不添加甲酸以及添加 0.05%、0.1% 和 0.5% 甲酸,结果表明,随着酸度的增加,(Z)-苯氧菌胺、啶虫脒、苯醚甲环唑、甲胺磷和氟胺氰菊酯提取效率逐渐降低,而燕麦敌、咪草酸和三环唑提取效率逐渐增加,但绝大多数目标物质的提取效率均没有太大的改变,因此,本试验以纯乙腈作为提取溶剂。

2.3 净化方式的优化

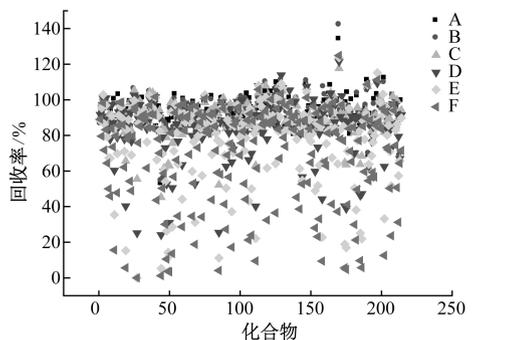
净化是农药残留检测的重要技术环节。为实现多组分农药残留检测的净化效果,本试验分别比

本试验采用 IDA 模式进行数据采集。飞行时间质谱首先采集一级质谱信息,并对采集到的一级质谱信息进行实时分析,如果信号变化是上升趋势,则会对该物质自动触发二级扫描;反之,则认为该物质为背景,不触发二级,即一级质谱动态背景扣除(dynamic background subtraction)。在该扫描模式下,通过一针进样,同时获得目标物质的一级色谱图、一级质谱图以及二级碎片图谱,通过标准品进样的方式得到各目标物质的保留时间、一级质谱、二级碎片信息,并将其添加到 LibraryView 软件中,建立 214 种目标物质的数据库,为样品的筛查确证提供比对信息。214 种目标物质的总离子流图谱见图 1。

较了六种不同的净化方式对 214 种目标物质提取效率的影响,分别为:A:50.0 mg PSA+50.0 mg C18; B:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄; C:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+5.0 mg GCB; D:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+10.0 mg GCB; E:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+20.0 mg GCB; F:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+50.0 mg GCB,见图 2 和 3。

通过比较 A 和 B 发现,Na₂SO₄ 的加入并未对 214 种目标物质造成影响,两者回收率基本一致,除乙酰甲胺磷、灭螨猛、溴虫腈、十三吗啉、螺环菌胺和甲氰菊酯六种目标物质回收率在 52.6%~74.5% 之间,以及决螨特回收率大于 112.2%,其余 117 种目标物质的回收率均在 80.1%~112.2% 之间。

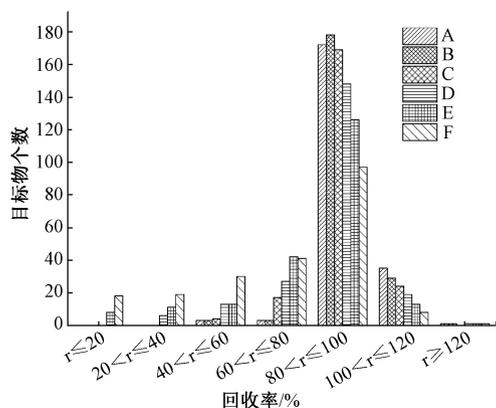
进一步比较了 GCB 的加入对各目标物质净化效果的影响,通过比较 B、C、D、E、F 发现,随着 GCB 含量的增加,仅环氟菌胺、派草丹和啉啉酯三种物质的回收率有所提高,分别从 84.9%、81.6% 和 87.1% 增加到 96.8%、96.4% 和 95.8%。有 100 种



注:A:50.0 mg PSA+50.0 mg C18;B:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄;C:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+5.0 mg GCB;D:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+10.0 mg GCB;E:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+20.0 mg GCB;F:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+50.0 mg GCB

图2 不同净化方式下214种目标物质的提取效率

Figure 2 Extraction efficiency of 214 target compounds with different purification method



注:A:50.0 mg PSA+50.0 mg C18;B:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄;C:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+5.0 mg GCB;D:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+10.0 mg GCB;E:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+20.0 mg GCB;F:50.0 mg PSA+50.0 mg C18+50.0 mg Na₂SO₄+50.0 mg GCB

图3 不同净化方式下目标物质在不同提取效率范围内的个数

Figure 3 Number of target compounds in different recovery ranges with different purification methods

物质的回收率随 GCB 含量的增加而基本保持不变,如(E)-苯氧菌胺、邻苯基苯酚、二丙烯草胺、苯霜灵、糠菌唑、百治磷、麦草氟甲酯、稻瘟灵、腈菌唑、十三吗啉等。有76种物质的回收率随 GCB 含量的增加而下降,其中部分物质回收率下降幅度较小,如氟硅唑、粉唑醇和多效唑,分别从99.5%、97.7%和95.3%降低到88.5%、92.1%和83.8%;而大多数物质回收率下降明显,如灭藻醌、双甲咪、联苯胍酯和四螨嗪,分别从97.3%、81.2%、86.3%和82.5%下降到15.6%、5.6%、0.0%和3.4%,而这4种物质都具有平面或对称结构,受 GCB 影响明显,与之前

的文献报道^[5]一致。有35种物质的回收率随着 GCB 含量的增加表现为先平衡后降低,如(E)-噻草醚,当 GCB 含量增加到20.0 mg 时回收率在90.5%~98.0%之间,当 GCB 含量增加到50.0 mg 时回收率降低到79.5%;再如氟酮唑草,当 GCB 含量增加到10.0 mg 时回收率在90.1%~93.4%之间,当 GCB 含量继续增加到20.0和50.0 mg 时,回收率分别下降到82.5%和70.0%。

由此可见,虽然 GCB 的加入能有效去除色素、甾醇等物质的干扰,但同时也会吸附一些目标物质,降低整体目标物质的回收率,如图2所示,当使用A和B方式净化提取液时,目标物质的总体回收率最佳,均有207种目标物质的回收率介于80%~120%之间;其次为C,有193种目标物质的回收率介于80%~120%之间;然后依次为D、E、F,分别有167、139、105种的回收率介于80%~120%之间。由于本试验的样品经乙腈提取后色素含量较多,而PSA以及C18对色素的去除有限,为了降低色素等杂质对色谱柱及仪器寿命的影响,本试验最终采用方法C作为净化方式。

2.4 基质效应的考察

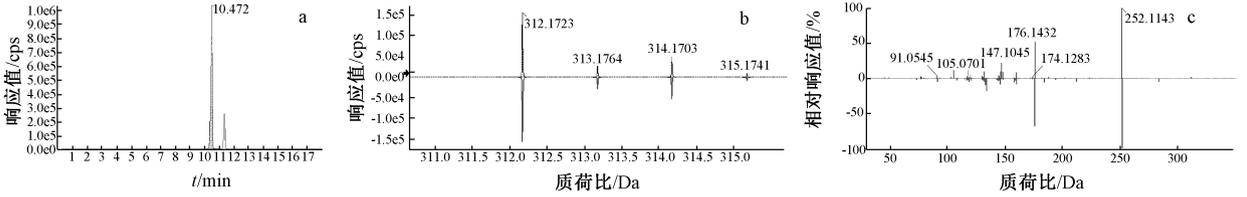
在液相色谱-质谱法中,由于共萃取组分之间存在电离竞争,常出现基质效应,导致信号抑制或增强。在空白基质提取液中(未净化)加入214种目标物质与同浓度标准溶液的响应值进行比较,结果表明,32.2%(69/214)的目标物质基质抑制效应大于40%,5.1%(11/214)的目标物质基质增强效应大于40%,其余目标物质基质效应均小于40%;经过C方式净化后,各目标物质的基质效应均小于20%,其中,90.7%(194/214)的农药存在基质抑制效应,9.3%(20/214)的农药表现基质增强效应。基质效应影响定量结果的准确性,通常采用同位素内标校正法或基质匹配标准曲线校正法。本方法的目标物质多达200多种,而内标物质的价格通常较昂贵,因此,本方法采用基质溶液匹配曲线消除基质效应的影响。

2.5 同分异构体的鉴别

同分异构体是具有相同分子量但不同结构式的物质,因此,对于质谱检测器,无论是低分辨质谱还是高分辨质谱,所监测的母离子完全一致,一般情况下,同分异构体的结构比较相似,故其二级碎片离子也具有一定程度的重合性。低分辨质谱通常采用多反应监测(MRM)模式监测,同分异构体类物质所选择的离子对可能完全一致,这样就加大了定性难度,而高分辨质谱则能采集比较丰富的碎片信息,提高同分异构体的定性鉴别能力。例如,丙草胺与丁草胺互为同分异构体,两者结构上只有一

个亚甲基的位置不同。由图 4 和 5 可见,丙草胺与丁草胺无法通过一级提取离子流色谱图和一级质谱图进行区别,而二级质谱具有明显的区别,能较

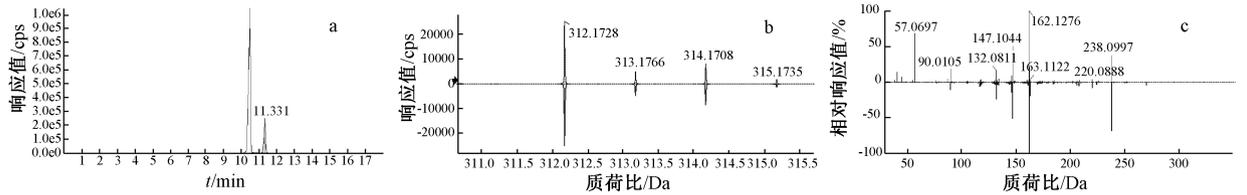
好的将两者区分,表明高分辨质谱在定性方面具有明显的优势,可作为蔬菜中农药残留定性筛查的有力工具。



注:a~c 分别为丙草胺的提取离子流色谱图、一级质谱镜像对比图和二级质谱镜像对比图

图 4 丙草胺的图谱

Figure 4 Chromatograms of pretilachlor



注:a~c 分别为丁草胺的提取离子流色谱图、一级质谱镜像对比图和二级质谱镜像对比图

图 5 丁草胺的图谱

Figure 5 Chromatograms of machette

2.6 214 种农药残留的方法学数据

以空白基质溶液配制标准系列溶液,外标法定量,以目标物质的浓度作为横坐标($x, \mu\text{g/L}$)、一级飞行时间质谱提取色谱图的峰面积作为纵坐标(y)绘制标准曲线。在空白样品中加入较低适当浓度水平的混合标准溶液,按照 1.2.1 处理后上机检测,获得目标物质的一级飞行时间质谱提取色谱图的信噪比(S/N),通过计算 S/N 为 3 时的质量浓度作为该物质的检测限(LOD), S/N 为 10 时的质量浓度作为该物质的定量限(LOQ)。通过向空白样品中

添加低、中、高三个浓度水平的混合标准溶液,使空白样品的加标浓度分别为 10、50、100 $\mu\text{g/kg}$,每个加标浓度平行测定 6 次,计算回收率和相对标准偏差(RSD)。214 种农药均在 4~1 000 ng/L 范围内线性关系良好,相关系数(r^2)均大于 0.99,各目标物质的 LOD 和 LOQ 分别在 0.004~5.443 和 0.206~18.125 $\mu\text{g/kg}$ 范围内,各目标物质在三个浓度加标水平下的平均回收率在 41.9%~128.5% 范围内, RSD 均在 0.4%~14.3% 范围内,部分目标物质的方法学数据见表 1。

表 1 青菜中部分农药残留化合物的线性相关系数、检测限、定量限、回收率与精密度($n=6$)

Table 1 Linear correlation coefficient (r^2), LOD, LOQ, recoveries and precisions of some pesticides in green vegetables

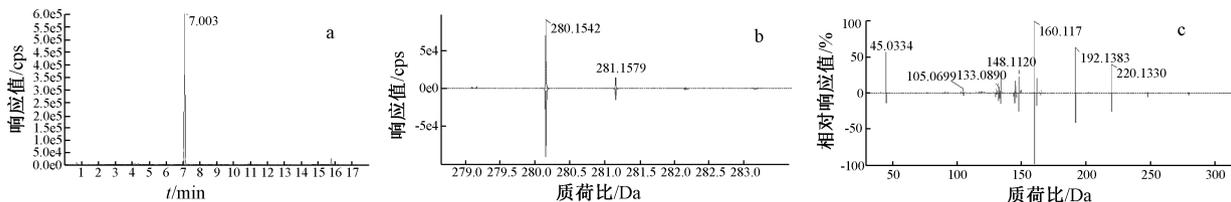
| 化合物 | 类别 | r^2 | LOD /($\mu\text{g/kg}$) | LOQ /($\mu\text{g/kg}$) | 低浓度加标 | | 中浓度加标 | | 高浓度加标 | |
|-----------|-------|---------|------------------------------|------------------------------|-------|----------|-------|----------|-------|----------|
| | | | | | 回收率/% | RSD /% | 回收率/% | RSD /% | 回收率/% | RSD /% |
| (Z)-甲基嘧草醚 | 醚 | 0.996 2 | 0.141 | 0.470 | 91.8 | 4.3 | 90.2 | 3.6 | 90.5 | 6.0 |
| 1-萘乙酰胺 | 有机氮 | 0.993 6 | 1.722 | 5.734 | 101.7 | 6.2 | 88.7 | 9.3 | 101.0 | 8.3 |
| 西草净 | 杂环 | 0.991 4 | 0.152 | 0.506 | 88.0 | 8.3 | 84.2 | 4.8 | 82.5 | 7.5 |
| 邻苯基苯酚 | 酚 | 0.998 7 | 1.381 | 4.599 | 66.4 | 7.6 | 85.0 | 8.8 | 77.7 | 5.7 |
| 吡螨胺 | 有机氯 | 0.998 8 | 0.253 | 0.842 | 82.6 | 6.0 | 85.7 | 8.1 | 82.8 | 8.6 |
| 乙草胺 | 酰胺 | 0.999 6 | 0.498 | 1.658 | 127.8 | 6.5 | 94.0 | 9.5 | 93.1 | 9.5 |
| 莠去津 | 三嗪 | 0.992 5 | 0.233 | 0.776 | 74.1 | 5.7 | 89.6 | 4.2 | 90.8 | 3.3 |
| 氧环唑 | 三唑 | 0.992 6 | 0.412 | 1.372 | 89.0 | 10.3 | 92.8 | 8.4 | 85.9 | 3.9 |
| 解草酮 | 酰胺 | 0.997 8 | 1.213 | 4.039 | 107.4 | 5.1 | 98.9 | 4.6 | 102.5 | 5.1 |
| 噻嗪酮 | 杂环 | 0.996 9 | 0.062 | 0.206 | 85.1 | 2.2 | 88.3 | 4.5 | 82.4 | 4.3 |
| 克百威 | 氨基甲酸酯 | 0.991 6 | 0.362 | 1.205 | 81.7 | 4.1 | 102.1 | 6.4 | 86.2 | 9.2 |
| 甲氧除草醚 | 醚 | 0.999 8 | 2.242 | 7.466 | 89.6 | 5.6 | 84.2 | 5.8 | 90.1 | 2.6 |
| 溴虫腈 | 杂环 | 0.991 3 | 3.881 | 12.924 | — | — | 61.6 | 2.9 | 79.1 | 4.3 |
| 乙霉威 | 有机氯 | 0.993 1 | 0.221 | 0.736 | 88.1 | 2.6 | 86.3 | 4.5 | 89.3 | 2.9 |
| 苯醚甲环唑 | 三唑 | 0.993 2 | 0.294 | 0.979 | 103.5 | 4.4 | 94.8 | 2.5 | 123.1 | 1.1 |
| 二甲吩草胺 | 酰胺 | 0.992 8 | 0.373 | 1.242 | 87.8 | 6.4 | 92.2 | 3.2 | 87.0 | 9.5 |
| 皮蝇磷 | 有机氯 | 0.995 8 | 5.443 | 18.125 | — | — | 83.9 | 4.4 | 85.7 | 4.8 |
| 甲氧菊酯 | 拟除虫菊酯 | 0.993 3 | 2.483 | 8.268 | 86.6 | 4.9 | 71.2 | 10.4 | 83.7 | 9.3 |
| 茚虫威 | 氨基甲酸酯 | 0.999 2 | 0.004 | 0.013 | 97.9 | 5.9 | 96.9 | 4.6 | 92.4 | 4.0 |
| 醚菊酯 | 拟除虫菊酯 | 0.999 6 | 1.231 | 4.099 | 103.7 | 9.1 | 102.7 | 5.1 | 98.0 | 10.2 |
| 吡啶菊酯 | 拟除虫菊酯 | 0.992 6 | 0.182 | 0.606 | 77.7 | 3.6 | 88.4 | 7.9 | 75.5 | 6.6 |
| 西玛津 | 杂环 | 0.992 8 | 0.324 | 1.079 | 87.7 | 2.8 | 91.2 | 1.2 | 96.9 | 3.2 |

注:—表示 LOQ 小于加标浓度

2.7 实际样品的检测

运用建立好的方法对13个地市的青菜样品进行检测,共检测出8种农药残留。其中南京、徐州、苏州、连云港、淮安、扬州、镇江和宿迁8个地市的蔬菜样品均未检出选定的214种农药残留,其余5个地市的样品至少检测出一种农药残留,无锡市的样品中检

出的甲霜灵与数据库的匹配度为99.2%,定性确证图谱见图6。如表2所示,检出农药残留的浓度均在2.8~75.4 μg/kg范围内,均小于GB 2763—2016^[2]中规定的蔬菜中农药最大残留限量值。从整体结果看,江苏省青菜中农药残留总体情况较好,但个别地市的青菜样品存在一定的农药残留暴露风险。



注:a~c分别为无锡市样品中甲霜灵的提取离子流色谱图、一级质谱镜像对比图和二级质谱镜像对比图

图6 无锡市样品中甲霜灵的图谱

Figure 6 Chromatograms of metalaxyl in Wuxi sample

表2 青菜样品中农药残留结果

Table 2 Results of pesticide residues in green vegetables

| 化合物 | 限量值/(mg/kg) | 样品结果/(μg/kg) | | | | |
|-------|-------------|--------------|------|------|-----|-----|
| | | 无锡 | 常州 | 南通 | 盐城 | 泰州 |
| 啉菌酯 | 0.1~3 | — | — | 75.4 | 2.8 | — |
| 苯醚甲环唑 | 0.02~2 | — | — | 19.4 | — | — |
| 克百威 | 0.02~1 | — | 13.6 | — | — | — |
| 甲霜灵 | 0.05~2 | 48.9 | 38.8 | — | — | — |
| 扑草净 | 0.05~0.1 | — | 15.8 | — | — | — |
| 乙霉威 | 1~5 | — | — | 73.2 | — | — |
| 腈菌唑 | 1 | 24.9 | — | — | — | 7.2 |
| 哒螨灵 | 0.1~2 | 12.8 | — | — | — | — |

注:—表示未检出

3 小结

本试验基于 QuEChERS 和基质分散固相萃取净化技术,建立了利用超高效液相色谱-四级杆飞行时间质谱同时筛查检测青菜样品中214种农药残留的方法,并利用该方法对江苏省13个地市的青菜样品进行了检测,共有5个地市检测出8种农药残留。该方法具有准确、快速、简单、高灵敏度、高通量等优点,适用于日常青菜样品中农药残留的快速筛查与检测,对于推动江苏省果蔬类膳食中农药残留的调查具有积极意义。

参考文献

[1] 张爱芝,王全林,曹丽丽,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中250种农药残留[J]. 色谱, 2016, 34(2): 158-164.

[2] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,中华人民共和国农业部,国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量:GB 2763—2016[S]. 北京:中国标准出版社,2016.

[3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,中华人民共和国农业部,国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中百草枯等43种农药最大残留限量:GB 2763.1—2018[S].

北京:中国标准出版社,2018.

[4] TOMASZ T, TOMASZ R. Application of HPLC-DAD after SPE/QuEChERS with ZrO₂-based sorbent in d-SPE clean-up step for pesticide analysis in edible oils [J]. Food Chem, 2015, 190(5): 71-79.

[5] 张雷,曹淑瑞,谭斯匀,等. 高效液相色谱法快速检测茶叶中三氯杀螨醇[J]. 分析试验室,2017, 36(9): 1048-1052.

[6] 林涛,邵金良,刘兴勇,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中41种农药残留[J]. 色谱, 2015, 33(3): 235-241.

[7] HUANG Y S, SHI T, LUO X, et al. Determination of multi-pesticide residues in green tea with a modified QuEChERS protocol coupled to HPLC-MS/MS [J]. Food Chem, 2018, 275(9): 255-264.

[8] 绳慧珊,张新忠,王新茹,等. 飞行时间质谱技术在水果、蔬菜与茶叶中农药残留分析中的应用[J]. 分析测试学报,2018, 37(2): 139-153.

[9] 陈达炜,高洁,吕冰,等. 超高效液相色谱-高分辨质谱法快速筛查土豆中的多种农药残留[J]. 分析化学,2014, 42(4): 579-584.

[10] 梁金良,梁妍,周威,等. 超声波辅助萃取-固相微萃取-气相色谱法检测13种贵州苗药的有机氯农药残留量[J]. 中国药理学杂志,2015, 50(21): 1917-1922.

[11] HAKME E, LOZANO A, UCLÉS S, et al. High-throughput gas chromatography-mass spectrometry analysis of pesticide residues in spices by using the enhanced matrixremoval-lipid and the

- sample dilution approach [J]. *J Chromatogr A*, 2018, 1573 (8): 28-41.
- [12] 高艺菱,陈萍虹,聂丹丹. 气相色谱-串联质谱双内标法测定茶叶中 53 种农药残留[J]. *色谱*, 2018, 36(6): 531-540.
- [13] LAIA S C, PILAR R M, MIREIA M S. Determination of 23 organochlorine pesticides in animal feeds by GC-MS/MS after QuEChERS with EMR-lipid clean-up [J]. *Anal Methods*, 2018, 10: 5171-5180.
- [14] 李蓉,储大可,张明杰,等. QuEChERS/HPLC-MS/MS 法测定黄瓜、菜心、葡萄、香蕉中 127 种农药残留 [J]. *分析测试学报*, 2015, 34(5): 502-511.
- [15] ZHANG Z H, DONG M F, HAO X H, et al. Evaluation of cleanup procedures in pesticide multi-residue analysis with QuEChERS in cinnamon bark [J]. *Food Chem*, 2018, 276 (10): 140-146.
- [16] YANG X, ZHANG H, LIU Y, et al. Multiresidue method for determination of 88 pesticides in berry fruits using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry: determination of 88 pesticides in berries using SPE and GC-MS [J]. *Food Chem*, 2011, 127(1): 855-865.
- [17] 李建勋,孙梦园,胡雪艳,等. 顶空固相微萃取结合气相色谱-三重四极杆质谱法快速测定茶叶中 11 种酰胺类除草剂残留 [J]. *分析测试学报*, 2017, 36(11): 1339-1345.
- [18] GABRIELI B, MAGALI K, LUCILA C, et al. An effective method for pesticide residues determination in tobacco by GC-MS/MS and UHPLC-MS/MS employing acetonitrile extraction with low-temperature precipitation and d-SPE clean-up [J]. *Talanta*, 2016, 161(8): 40-47.
- [19] HOU X, HAN M, DAI X H, et al. A multi-residue method for the determination of 124 pesticides in rice by modified QuEChERS extraction and gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2013, 138(2/3): 1198-1205.
- [20] HAN Y T, SONG L, ZOU N, et al. Multi-residue determination of 171 pesticides in cowpea using modified QuEChERS method with multi-walled carbon nanotubes as reversed-dispersive solid-phase extraction materials [J]. *J Chromatogr B*, 2016, 1031 (7): 99-108.
- [21] 王娇,齐沛沛,刘真真,等. 基于磁纳米材料的土壤中多农药残留高通量分析技术研究 [J]. *分析化学*, 2019, 47(2): 262-270.
- [22] 李雯婷,苗水,陈铭,等. 液相色谱-串联质谱法同时测定丹参中 139 种农药残留 [J]. *世界中医药*, 2019, 14(4): 783-797.

实验技术与方法

大气压气相色谱电离源-串联质谱法测定蔬菜中 23 种农药残留

郁欢欢^{1,2}, 杨奕², 张晶², 徐慧兰¹, 王建武¹

(1. 中南大学湘雅公共卫生学院, 湖南长沙 410078; 2. 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013)

摘要:目的 建立蔬菜中 23 种农药的大气压气相色谱电离源-串联质谱检测方法。方法 采用丙酮提取蔬菜样品中的目标农药,多壁碳纳米管为净化材料,经 DB-5MS 色谱柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm) 分离,结合大气压气相色谱电离源技术,正离子多反应监测 (MRM) 模式进行检测,外标标准曲线法定量。结果 23 种农药在 0.01~20 μg/L 范围内线性良好,相关系数 (R^2) 均大于 0.99,在蔬菜基质中 23 种农药的方法检出限和定量限分别为 0.02~0.40 和 0.05~1.25 μg/kg,回收率为 66.7%~110.7%,相对标准偏差 (RSD) ≤ 14.8%。结论 本方法具有良好的灵敏度、重现性和特异性,适用于蔬菜中多种农药残留的快速检测。

关键词: 农药残留; 蔬菜; 大气压气相色谱电离源

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2020)01-0031-08

DOI: 10.13590/j.cjfh.2020.01.006

Determination of 23 pesticide residues in vegetable by atmospheric pressure gas chromatography-tandem mass spectrometry

YU Huanhuan^{1,2}, YANG Yi², ZHANG Jing², XU Huilan¹, WANG Jianwu¹

(1. Xiangya Public Health College, Central South University, Hunan Changsha 410078, China;

2. Beijing Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100013, China)

收稿日期: 2019-12-20

基金项目: 国家重点研发计划 (2017YFC1601600)

作者简介: 郁欢欢 女 硕士生 研究方向为食品安全检测 E-mail: yuhuan@csu.edu.cn

通信作者: 王建武 男 副教授 研究方向为食品安全检测 E-mail: jianwu_wang@csu.edu.cn